

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Якуниной Марии Вячеславовны «Функциональная активность и биохимические свойства невирионной многосубъединичной РНК-полимеразы бактериофага phiKZ», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология

Первым этапом экспрессии генов является транскрипция, осуществляемая ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой (РНКП). РНКП является одним из важнейших ферментов, и изучение всех аспектов его функционирования продолжается уже много лет. Ранее было охарактеризовано два эволюционно неродственных канонических класса РНКП: односубъединичные и многосубъединичные полимеразы. Также в нескольких работах, на основании анализа базы данных полных геномов, методами биоинформатики было сделано предположение о существовании неканонических многосубъединичных РНКП гомологичных каноническим только в области каталитического центра. Работа Марии Вячеславовны посвящена исследованию свойств одной из двух ранее предсказанных неканонических полимераз, кодируемых бактериофагом phiKZ.

В работе вводится разделение всех восьми белков на два набора: вирионный и невирионный, на основании того, что половина из предсказанных белков была ранее обнаружена среди белков фаговой частицы, вириона. Делается предположение, что каждый из наборов соответствует неканонической фаговой РНКП.

Показано, что в отличие от всех ранее исследованных бактериофагов, для транскрипции генома фага phiKZ не используется бактериальная РНКП клетки-хозяина. Кроме того было показано, что транскрипция ранних генов не требует синтеза новых фаговых белков, тогда как для транскрипции средних и поздних генов это является обязательным условием. Делается предположение, что вРНКП фага отвечает за транскрипцию ранних генов, а нвРНКП за транскрипцию средних и/или поздних генов.

Разработан метод выделения нвРНКП из инфицированных клеток, позволяющий получать чистый функционально активный препарат этого фермента. Определен полный субъединичный состав нвРНКП, в который, кроме ранее предсказанных биоинформатически четырех субъединиц, также входит пятая субъединица, не имеющая гомологов с известными функциями. Выделенный препарат нвРНКП был охарактеризован в опытах по транскрипции *in vitro*. Показано, что нвРНКП специфически узнает поздние промоторы фага и для транскрипции поздних промоторов абсолютно необходимы все четыре нуклеотида мотива поздних промоторов, а также область после точки старта транскрипции.

В рамках работы Марии Вячеславовны был впервые выделен и охарактеризован уникальный фермент, неканоническая фаговая многосубъединичная РНКП. Более того, была определена роль данной полимеразы в ходе развития фаговой инфекции. Полученные данные являются чрезвычайно актуальными, как для дальнейших исследований механизмов работы многосубъединичных полимераз, так и для изучения их эволюции. Кроме того, так как бактериофаг phiKZ заражает патогенную бактерию *Pseudomonas aeruginosa*, он представляет интерес с точки зрения разработки фаговых коктейлей для борьбы с инфекциями, вызванными данной бактерией. В результате, данные по развитию инфекции клетки-хозяина этим фагом, обладают также несомненной практической значимостью.

Достоверность основных результатов и выводов работы была обеспечена использованием современного оборудования и высокой воспроизводимостью результатов. Работа прошла хорошую апробацию – по теме работы опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах, результаты работы были представлены на 5 российских и международных конференциях.

В автореферате обоснована актуальность проведенных исследований, сформулированы цели и задачи работы, а также подробно обоснована её практическая значимость. Основное содержание работы полностью понятно из текста автореферата. Выводы представляют собой перечисление основных результатов работы в сжатой форме. Помимо этого, желательно было бы провести некоторое обобщение полученных результатов.

В целом, работа выполнена на высоком профессиональном и научном уровне. Автор демонстрирует владение обширным арсеналом методов исследования.

Диссертация Якуниной Марии Вячеславовны соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям. Якунина М.В. заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология

Старший научный сотрудник, к.б.н.
Национальный исследовательский
центр "Курчатовский институт"
ФГБУ Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова
188300, Ленинградская обл., г.Гатчина,
Орлова роща, ФГБУ ПИЯФ.
+7(813-71) 46025
dimabaitin@yahoo.com



Д. М. Байтин

Подпись руки 
ЗАВЕРАЮ:
Нач. отдела кадров 
Слудскова О.К.